

谷氨酰胺对热应激吉林白鹅血液指标及肠黏膜屏障的影响*

徐娟, 孙汇蕾, 仲庆振**

(吉林农业大学 动物科学技术学院, 吉林省动物营养与饲料科学重点实验室, 吉林 长春 130118)

摘要:【目的】探讨谷氨酰胺(Gln)对热应激吉林白鹅血液指标的影响及对肠上皮黏膜屏障系统的保护作用。【方法】将180只1日龄吉林白鹅随机分为3组,分别为适温组(CON)、热应激组(HS)和谷氨酰胺组(GLN),每组6个重复,每个重复10只鹅。第69天CON组和HS组腹腔注射生理盐水[0.75 g/kg (bw)],GLN组腹腔注射Gln[0.75 g/kg (bw)],注射24 h后,HS组与GLN组进行4 h热应激处理(41℃±1℃,相对湿度60%),结束后进行屠宰。采集血液测定二胺氧化酶(DAO)、D-乳酸(DLA)、乳酸脱氢酶(LDH)、皮质酮(CORT)、肌酸激酶(CK)、三碘甲状腺原氨酸(T₃)和甲状腺素(T₄)的活性水平;刮取空肠上皮黏膜测定HSP70、Occludin、Claudin 1和ZO-1的mRNA和蛋白质的相对表达量。【结果】(1)与HS组相比,GLN组血液中除T₃呈升高趋势外,其他指标均表现为下降趋势。(2)GLN诱导HSP70 mRNA的高表达($P<0.01$),同时使热应激条件下紧密连接蛋白mRNA的表达情况得到改善($P<0.01$)。(3)蛋白质相对表达水平趋势变化与基因相似。【结论】Gln可有效缓解吉林白鹅的热应激状态,肠上皮黏膜屏障破损情况也得到显著改善。

关键词: 谷氨酰胺; HSP70; 肠道通透性; 热应激

中图分类号: S 895.799.9

文献标识码: A

文章编号: 1004-390X (2019) 04-0625-06

Effects of Glutamine on the Blood Index and Intestinal Mucosal Barrier in Heat Stressed Jilin White Goose

XU Juan, SUN Huilei, ZHONG Qingzhen

(Jilin Provincial Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science, College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the effects of glutamine (Gln) on the blood index of Jilin white goose under heat stress and its protective effect on the intestinal epithelial mucosal barrier system. [Method] A total of 180 1-day-old Jilin white geese were randomly divided into three treatment groups: control group (CON), heat stress group (HS) and glutamine group (GLN), in a completely randomized design 6 replications with 10 geese in each replication. On the 69th day, geese in the CON group and the HS group were intraperitoneally injected with normal saline [0.75 g/kg (bw)], and those in the Gln group with Gln [0.75 g/kg (bw)]. After 24 hours, the geese in the HS group and the Gln group were subjected to heat stress treatment for 4 hours (41℃±1℃, relative humidity 60%), and then slaughtered. Blood sample were collected for the deamination of diamine oxidase (DAO), D-

收稿日期: 2018-11-21

修回日期: 2019-03-02

网络首发时间: 2019-07-17 09:38:52

*基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(31601982)。

作者简介: 徐娟(1993—),女,贵州省遵义市人,在读硕士研究生,主要从事动物营养与饲料科学研究。E-mail: 102639373@qq.com

**通信作者 Corresponding author: 仲庆振(1976—),女,吉林省四平市人,博士,副教授,主要从事家禽营养研究。E-mail: qingzhenzhong@163.com

网络首发地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/53.1044.S.20190716.1133.002.html>



lactic acid (DLA), lactate dehydrogenase (LDH), corticosterone (CORT), creatine kinase (CK), triiodothyronine (T_3), and thyroid (T_4) activity. The relative expression levels of *HSP70*, *Occludin*, *Claudin 1* and *ZO-1* mRNA were determined by scraping the jejunal epithelial mucosa. [**Results**] (1) Compared with the HS group, the GLN group showed a downward trend in the blood except T_3 . (2) GLN induced high expression of *HSP70* mRNA ($P<0.01$), and improved the expression of tight junctional mRNA under heat stress ($P<0.01$). (3) The trend of relative expression levels of proteins is similar to that of genes. [**Conclusion**] Gln can effectively alleviate the heat stress state of Jilin white goose, and significantly improve the damage to intestinal epithelial mucosal barrier.

Keywords: glutamine; HSP70; intestinal permeability; heat stress

畜禽肠道的黏膜屏障系统易受环境尤其是热应激的破坏,对于匮乏散热系统、高温调节能力较差的家禽更是如此。肠黏膜屏障由生物屏障、免疫屏障、机械屏障和化学屏障组成,机械屏障是肠黏膜防御系统最重要的一环^[1],而肠道肠黏膜机械屏障的结构基础是黏膜上皮细胞之间的紧密连接又称封闭小带。紧密连接的物质基础是高浓度的跨膜蛋白,主要是闭合蛋白(Claudin)、咬合蛋白(Occludin)及外周胞浆蛋白(ZO)^[2]。其中 Claudin 与 Occludin 是整体膜蛋白,对肠黏膜屏障功能的维持和紧密连接的完整性有重要作用,并且 occludin 的下调易引起肠道通透性的增加^[3]。ZO 的异构体 ZO-1、ZO-2 能与 Occludin 和肌动蛋白骨架(actin)连在一起形成稳定的连接系统,是紧密连接的重要组成部分,ZO-1 对紧密连接功能具有重要意义,所以 ZO-1 可作为机械屏障功能完整性的指标^[4]。动物遭受热应激时,体表及心脑血管血流量增加以增强体内热量辐射扩散,从而导致肠道血流量减少,发生缺血缺氧,进而引起无氧代谢发生,肠道乳酸堆积,上皮黏膜水肿,甚至出现黏膜层断裂和脱落等症状,导致肠道通透性急剧增加,内毒素移位,破坏肠黏膜的屏障功能^[5-7]。

近年研究发现:热休克蛋白(heat shock proteins, HSPs)可减轻肠黏膜上皮细胞应激损伤,降低肠道通透性,缓解机体肠道应激状态^[8-10]。而谷氨酰胺(glutamine, Gln)被证实可特异性诱导 *HSP70* 的表达,但通过 Gln 诱导 *HSP70* 上调表达以保护畜禽肠道黏膜屏障的研究尚不多见。本试验拟通过以 Gln 为诱导剂,诱导吉林白鹅 *HSP70* 的上调表达,研究热应激条件下模型动物肠血液指标、肠道通透性、肠上皮细胞紧密连接蛋白 Occludin、Claudin 和 ZO-1 的表达变化,进而探

究 Gln 介导 HSP70 对鹅的热应激反应及肠道上皮黏膜屏障的保护作用。从理论上阐明 Gln 介导 HSP70 保护热应激鹅肠黏膜机械屏障的作用机制,还可为研发安全、高效的抗应激制剂提供理论与试验依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物的选择与试验设计

选取健康 1 日龄吉林白鹅 180 只,随机分为 3 个处理组,分别为适温组(CON)、热应激组(HS)和谷氨酰胺组(GLN),每组 6 个重复,每个重复 10 只鹅,饲养于环控仓内,自由采食及饮水。随日龄的增长,逐渐将饲养温度调节至 $22\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。待饲养至 69 日龄时,CON 组及 HS 组分别腹腔注射生理盐水,GLN 组注射 Gln 注射液,注射剂量均为 0.75 g/kg (bw) ;注射 24 h 后 HS 组和 GLN 组进行 4 h 的急性热应激处理($40\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$,相对湿度 65%),CON 组仍置于 $22\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下。试验鹅只按正常免疫程序进行免疫接种。

1.2 样品采集

热应激结束后,每个重复随机选取 3 只鹅处死,分别用促凝管与抗凝管收取动脉血,制备血清和血浆, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存待测。取血后迅速取出肠段,用载玻片刮取空肠黏膜于冻存管中,液氮速冻保存,后转移至 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 待测。

1.3 血液指标测定

血清指标:LDH、CK、 T_3 、 T_4 和 CORT;血浆指标:DAO、DLA。其中 CK、LDH 利用全自动生化分析仪进行测定(Beckman Coulter, 美国), T_3 、 T_4 利用全自动化学发光免疫分析仪进行测定(Beckman Coulter, 美国),CORT、DAO、DLA 利用酶标仪进行测定(BioTek, 美国)。以上试剂盒除 CORT、DAO、DLA 购自南京建成生物工程

研究所以外, 其余购自美国 Beckman Coulter 有限公司, 具体操作按照说明书进行。

1.4 空肠上皮黏膜 HSP70 及紧密连接相关基因的表达水平测定

以 GAPDH 为内参基因, 参照 GenBank 中鹅

HSP70、Occludin、Claudin 1 和 ZO-1 基因的 mRNA 序列, 运用 Primer Premier 5.0 设计引物, NCBI BLAST 分析引物特异性, 然后由生工生物工程 (上海) 股份有限公司负责引物的合成。所有引物序列见表 1。

表 1 引物序列
Tab. 1 Primer sequences

基因 gene	基因 ID gene ID	引物序列 primer sequence	产物/bp product size
HSP70	NM_198892.1	F: 5'-GGAGACAAGTCCGAGAAT-3' R: 5'-GGAGGGATGCCTGTTAGA-3'	335
Occludin	XM_013199669.1	F: 5'-ACAGCAGCAGCACTTACCTCAAC-3' R: 5'-AGGCAGAGCAGGAGGACGATG-3'	109
Claudin 1	XM_013199194.1	F: 5'-GACCAGGTGAAGAAGATGCGGATG-3' R: 5'-CGAGCCACTCTGTTGCCATACC-3'	107
ZO-1	XM_013177404.1	F: 5'-GAGCCTTCAGACCATTCCAGACATTC-3' R: 5'-TCGCCTGCCACCTCTTCCATAG-3'	155
GAPDH	XM_013199522.1	F: 5'-GGTGGTGCTAAGCGTGTGCAT-3' R: 5'-CCCTCCACAATGCCAAAGTT-3'	179

注: F. 正向引物; R. 反向引物。
Note: F. forward primer; R. reverse primer.

取适量样品于研钵中用液氮研磨处理, 按照 Trizol 试剂 (Invitrogen, 美国) 说明书进行总 RNA 的提取。利用微量紫外分光光度计 (Thermo Nano Drop2000, 美国) 检测总 RNA 的浓度及纯度。所有 OD_{260 nm}/OD_{280 nm} 值为 1.8~2.0 的样品进行反转录。按照 PrimerScript™ RT Reagent Kit with gDNA Eraser (TaKaRa, Japan) 说明书将样品反转录为 cDNA, 用普通 PCR 仪进行样品反转录, 反转条件: 30 ℃ 15 min 反转录反应, 85 ℃ 酶失活 5 s, 4 ℃ 结束。

采用 iQ™ SYBR® Green Supermix (BIO-RAD, 美国) 于 StepOne Plus7500 实时荧光定量分析仪 (Applied Biosystems, 美国) 中进行扩增反应。反应体系为 20 uL: iQ™ SYBR® Green supermix (2x)10 μL, 上下游引物各 0.6 μL, cDNA 模板 2 μL, 无酶水 6.8 μL。实时荧光定量反应程序为: 95 ℃ 3 min 预变性, 95 ℃ 15 s 变性, 60 ℃ 30 s 退火, 40 个循环, 60 ℃ 30 延伸, 4 ℃ 保存。用对照组平均值归一法与 2^{-ΔΔCt} 法进行基因相对定量分析。

1.5 空肠上皮黏膜 HSP70 及紧密连接相关蛋白的表达水平测定

取一定量的组织样品用液氮研磨转移至离心管, 加入 RIPA 裂解液 (康为世纪, 中国) 与一定量的蛋白酶抑制剂提取总蛋白, 用 BCA 定量试

剂盒 (Thermo, 美国) 测定样品总蛋白浓度。用蛋白免疫印迹法 (Western-blot) 测定相关蛋白表达水平。利用 Kodak Molecular Imaging Systems 进行图像采集, Quality One 软件进行蛋白灰度值分析, 蛋白相对表达用“目的蛋白灰度值/内参蛋白灰度值”表示。

1.6 数据统计分析

试验数据采用 IBM SPASS Statistic 19 进行单因子分析, 用 Duncan’s 法进行多重显著性比较分析, 结果用“平均值±标准差 (mean±SD)”表示。

2 结果与分析

2.1 Gln 对热应激吉林白鹅血液指标的影响

由表 2 可知: Gln 可有效缓解热应激对吉林白鹅血液指标的影响。热应激所致的 CK、LDH、T₄、CORT、DAO 和 DLA 水平显著升高, 在腹腔注射 Gln 后均又显著下降。其中 DAO 和 DLA 恢复到了对照组水平。

2.2 Gln 对热应激吉林白鹅空肠 HSP70 及紧密连接相关基因 mRNA 相对表达量的影响

如图 1 所示: 热应激处理后空肠 HSP70 mRNA 表达量显著升高 (P<0.01), 注射 Gln 后进一步诱导了 HSP70 mRNA 的高表达 (P<0.01); 与对照组相比, 热应激处理显著降低了 Claudin 1、

表 2 Gln 对热应激吉林白鹅血液指标的影响

Tab. 2 Effect of Glutamine on blood index of heat stressed Jilin white goose

项目 item	CON	HS	GLN
CK/(IU·L ⁻¹)	710.76±117.84 Aa	3813.27±153.43 Bb	1075.84±59.59 Ac
LDH/(IU·L ⁻¹)	220.34±38.53 Aa	1012.4±111.4 Bb	415.97±83.2 Ac
T ₄ /(nmol·L ⁻¹)	19±1.49 Aa	56.23±1.72 Bb	38.55±0.55 Cc
T ₃ /(nmol·L ⁻¹)	2.32±0.37 Aa	2.3±0.14 Aa	3.28±0.39 Bb
CORT/(ng·mL ⁻¹)	35.54±2.77 Aa	114.08±4.69 Bb	71.92±3.12 Cc
DAO/(ng·mL ⁻¹)	17.92±0.58 Aa	21.21±0.64 Bb	18.31±1.5 Aa
DLA/(mmol·L ⁻¹)	6.4±0.23 Aa	8.57±0.97 Ab	6.4±0.1 Aa

注：同行数据不同小写字母表示差异性显著 ($P<0.05$)，不同大写字母表示差异性极显著 ($P<0.01$)；下同。
Note: The difference between the lowercase letters of the peer data were significant ($P<0.05$), and the difference between the uppercase letters were extremely significant ($P<0.01$); the same as below.

Occludin 和 ZO-1 的 mRNA 表达 ($P<0.01$)，但注射 Gln 可显著提高上述紧密连接相关基因的表达水平 ($P<0.01$)。

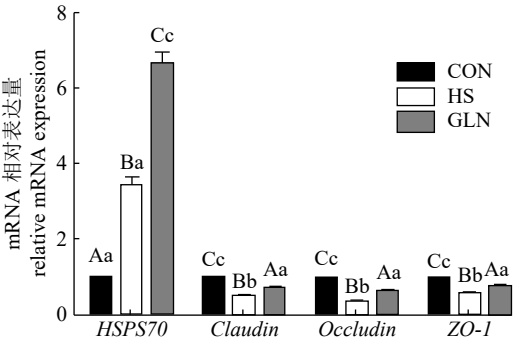


图 1 基因 mRNA 相对表达量
Fig. 1 Relative expression of mRNA gene

2.3 Gln 对热应激吉林白鹅空肠 HSP70 及紧密连接相关蛋白相对表达水平的影响

由图 2、3 可见：HSP70 和紧密连接蛋白 Claudin 1、Occludin 和 ZO-1 蛋白水平上的表达情况与基因表达的规律一致。Gln 可诱导热应激鹅 HSP70 蛋白高表达 ($P<0.01$)，也可显著提高因热应激而显著下降的紧密连接蛋白 Claudin 1、Occludin、ZO-1 的蛋白表达水平 ($P<0.01$)。

3 讨论

动物血液指标是动物体内物质代谢及组织器官生理机能状况的重要判断指标^[11]。CK 是一种器官特异性酶，是主要存于心肌及骨骼肌的细胞内酶，CK 含量的增加反映应激对一些组织细胞

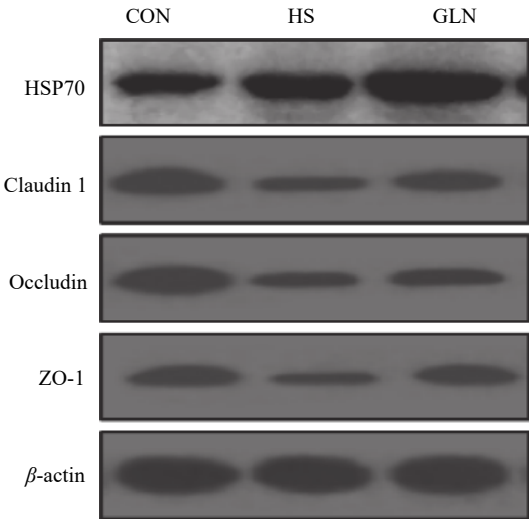


图 2 Western-blot 结果
Fig. 2 Results of Western-blot

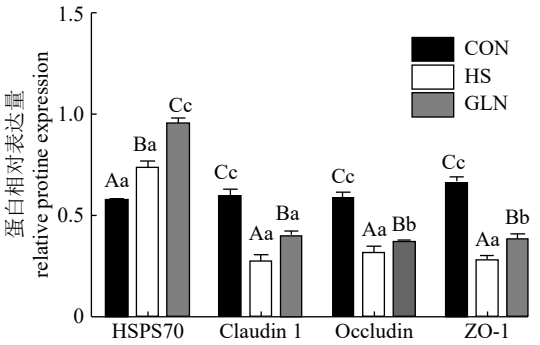


图 3 蛋白相对表达量
Fig. 3 Relative protein expression

的损伤程度^[12]。LDH 是糖代谢中丙酮酸无氧酵解为乳酸的催化酶，血液中 LDH 浓度升高说明热应激时机体无氧酵解过程加强^[13]。白丹丹等^[14]、钟光等^[15]报道热应激导致机体细胞膜受损，无氧代谢增强，血液中 CK、LDH 浓度升高。DAO、DLA 是反应肠黏膜屏障系统完整性的重要标志

物,DAO是肠黏膜上皮绒毛细胞中的一种细胞内酶,DLA是肠道细菌的代谢产物,肠道通透性增加会直接引起血液中DAO和DLA含量升高^[16-17]。马燕芬等^[18]研究表明热应激会导致奶山羊瘤胃黏膜屏障功能受损,通透性增加,增强血液中DAO和DLA活性水平。热环境会引起机体下丘脑—肾上腺皮质轴兴奋,改变血液中CORT、 T_3 、 T_4 活性以调节机体代谢。仲庆振等^[19]、王玲等^[20]发表的文献中报道高温条件下,动物血液中 T_3 、 T_4 出现下调趋势。本研究发现:经热应激处理后,鹅血液中CK、LDH、 T_4 、CORT、DAO和DLA水平均显著升高,但 T_3 水平未表现出显著变化。鹅注射Gln可显著降低鹅血液中CK、LDH、 T_4 、CORT、DAO和DLA的水平,但未能恢复至对照组水平。由此可见,Gln作为一种抗热应激试剂可有效降低鹅血液中应激指标,调节机体代谢,缓解家禽热应激生理反应,减轻家禽组织器官热应激损伤。

上皮细胞在黏膜表层通过紧密连接、黏附连接、桥粒构建了一个选择性屏障,其功能是平衡促进相反性目标的转运及限制跨细胞间隙的自由交换^[21]。紧密连接是肠道黏膜的选择性渗透屏障,代表细胞旁转运的限速步骤,在分子水平,紧密连接由紧密连接蛋白家族构成,其中一些调控细胞旁通道,另一些则搭建紧密连接支架并且填充细胞间隙^[22]。紧密连接蛋白家族主要由Claudin、Occludin、连接黏附分子(junction adhesion molecule, JAMs)及ZO组成^[23]。CHEN等^[24]对小鼠进行口服丙烯醛试验,其数据结果表明:丙烯醛引起Claudin 1、Occludin、ZO-1三种紧密连接蛋白水平的显著性下调与再分布,导致小鼠肠上皮屏障受损通透性增强;YAN等^[25]和TURNER^[26]也分别在文献中报道:病理条件下紧密连接蛋白的下调表达标志着机体肠道通透性的增加,也意味着肠道上皮黏膜屏障完整性的破坏;XING等^[27]对断奶仔猪的研究表明:饲料中添加Gln可使仔猪肠道紧密连接蛋白mRNA的表达增加,降低仔猪肠道通透性,促进仔猪肠道发育^[27];同样CHAUDHRY等^[28]在对小鼠的研究中发现:Gln可以有效缓解小鼠由乙醇引起的肠道损伤,其添加可以阻断乙醇诱导的小鼠肠道远端结肠中紧密连接蛋白的缺失与重新分布;而YANG等^[29]在试验中发现肠上皮屏障功能障碍与

HSP70蛋白水平密切相关,其结果证实HSP70的上调表达对上皮屏障系统功能的维持具有重大意义,HSP70预处理可显著降低由于应激导致的肠道通透性增加问题;LIU等^[30]也在综述中论述了HSP70通过多种生物功能改善肠道屏障功能的相关保护机制。

本研究结果显示:吉林白鹅进行热应激处理后,HSP70 mRNA和蛋白表达均显著升高,说明机体在遭受应激时会自主上调HSP70表达以缓解应激损伤,注射Gln后又进一步极显著地提高了鹅HSP70 mRNA和蛋白的表达水平,说明注射Gln可显著提高鹅的抗热应激能力。紧密连接蛋白基因Claudin 1、Occludin和ZO-1 mRNA与蛋白水平的表达趋势一致,热应激处理显著降低了上述紧密连接蛋白基因和蛋白水平的表达,但注射Gln后上述紧密连接蛋白的表达得到了显著的恢复。该结果表明:急性热应激可使吉林白鹅肠道上皮黏膜紧密连接受损,肠道通透性增加;Gln作为HSP70表达诱导剂,可在热应激条件下促使HSP70大量合成表达以行使分子伴侣生物功能,提高肠道上皮黏膜紧密连接蛋白表达水平,降低肠道通透性,保护肠道上皮黏膜屏障系统。

4 结论

腹腔注射Gln可缓解热应激对鹅血液中CK、LDH、DAO、DLA、CORT和 T_4 水平的影响;Gln可通过诱导热应激鹅体内HSP70的表达,改善肠道上皮黏膜紧密连接Claudin 1、Occludin和ZO-1 mRNA及蛋白的相对表达,降低肠道通透性,缓解吉林白鹅肠道应激损伤。

[参考文献]

- [1] 武金宝,王继德,张亚历.肠黏膜屏障研究进展[J].世界华人消化杂志,2003,11(5):619. DOI: 10.3969/j.issn.1009-3079.2003.05.036.
- [2] LAMBERT G P. Stress-induced gastrointestinal barrier dysfunction and its inflammatory effects[J]. Journal of Animal Science, 2009, 87(suppl_14): E101. DOI: 10.2527/jas.2008-1339.
- [3] VORBRODT A W, DOBROGOWSKA D H. Molecular anatomy of intercellular junctions in brain endothelial and epithelial barriers: electron microscopist's view[J]. Brain Research Brain Research Reviews, 2003, 42(3): 221. DOI: 10.1016/S0165-0173(03)00177-2.
- [4] KEON B H. Symplekin, a novel type of tight junction plaque protein[J]. The Journal of Cell Biology, 1996, 134(4): 1003. DOI: 10.1083/jcb.134.4.1003.

- [5] DOKLADNY K, ZUHL M N, MOSELEY P L. Intestinal epithelial barrier function and tight junction proteins with heat and exercise[J]. *Journal of Applied Physiology*, 2016, 120(6): 692. DOI: [10.1152/japplphysiol.00536.2015](#).
- [6] ZUHL M, DOKLADNY K, MERMIER C, et al. The effects of acute oral glutamine supplementation on exercise-induced gastrointestinal permeability and heat shock protein expression in peripheral blood mononuclear cells[J]. *Cell Stress & Chaperones*, 2015, 20(1): 85. DOI: [10.1007/s12192-014-0528-1](#).
- [7] QUINTEIROFILHO W M, RIBEIRO A, FERRAZDE-PAULA V, et al. Heat stress impairs performance parameters, induces intestinal injury, and decreases macrophage activity in broiler chickens[J]. *Poultry Science*, 2010, 89(9): 1905. DOI: [10.3382/ps.2010-00812](#).
- [8] DOKLADNY K, MOSELEY P L, MA T Y. Physiologically relevant increase in temperature causes an increase in intestinal epithelial tight junction permeability[J]. *American Journal of Physiology Gastrointestinal & Liver Physiology*, 2006, 290(2): G204. DOI: [10.1152/ajpgi.00401.2005](#).
- [9] HAO Y, GU X H, WANG X L. Overexpression of heat shock protein 70 and its relationship to intestine under acute heat stress in broilers: 1. Intestinal structure and digestive function[J]. *Poultry Science*, 2012, 91(4): 781. DOI: [10.3382/ps.2011-01627](#).
- [10] 施琳琳, 徐虹, 陈建永, 等. 大黄素通过上调 HSP70 的表达保护门脉高压大鼠肠屏障功能的研究[J]. *中华中医药杂志*, 2016, 31(8): 3257.
- [11] 朱丽慧, 吴宁, 朱根生, 等. 热应激对两种高密度饲养模式下笼养蛋鸡血液生化指标的影响[J]. *中国家禽*, 2018, 40(8): 32. DOI: [10.16372/j.issn.1004-6364.2018.08.008](#).
- [12] 杨培歌, 顾宪红. 应激对猪生产性能、行为及血液理化指标影响的研究进展[J]. *中国畜牧兽医*, 2013, 40(1): 111. DOI: [10.3969/j.issn.1671-7236.2013.01.030](#).
- [13] 董淑丽, 王占彬, 雷雪芹, 等. 热应激对动物血液生化指标的影响[J]. *家畜生态学报*, 2004, 25(2): 54. DOI: [10.3969/j.issn.1673-1182.2004.02.018](#).
- [14] 白丹丹, 敖日格乐, 王纯洁, 等. 慢性冷热应激对三河牛血液生化指标及相关基因表达的影响[J]. *中国农业大学学报*, 2017, 22(8): 50. DOI: [10.11841/j.issn.1007-4333.2017.08.07](#).
- [15] 钟光, 施寿荣, 邵丹, 等. 持续热应激对黄羽肉鸡生长性能、肉品质和血液指标的影响[J]. *动物营养学报*, 2018, 30(10): 3923. DOI: [10.3969/j.issn.1006-267x.2018.10.016](#).
- [16] SUN X Q, FU X B, ZHANG R, et al. Relationship between plasma D(-)-lactate and intestinal damage after severe injuries in rats[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2001, 7(4): 555. DOI: [10.3748/wjg.v7.i4.555](#).
- [17] ZHANG L, FAN X M, ZHONG Z Y, et al. Association of plasma DAO and iFABP with severity of disease in patient with heat stroke[J]. *The American Journal of Emergency Medicine*, 2015, 33(7): 867. DOI: [10.1016/j.ajem.2015.01.047](#).
- [18] 马燕芬, 陈琦, 杜瑞平, 等. 热应激对奶山羊瘤胃上皮细胞屏障通透性的影响[J]. *中国农业科学*, 2013, 46(21): 4478. DOI: [10.3864/j.issn.0578-1752.2013.21.010](#).
- [19] 仲庆振, 王丹, 孙泽威, 等. 急性热应激期间鹅血清生化指标和相关激素变化规律的研究[J]. *中国畜牧杂志*, 2013, 49(17): 74. DOI: [10.3969/j.issn.0258-7033.2013.17.018](#).
- [20] 王玲, 罗宗刚, 蔡明成, 等. 热应激对肉牛血清离子、酶活性、抗氧化及免疫指标的影响[J]. *西南师范大学学报(自然科学版)*, 2017, 42(12): 37. DOI: [10.13718/j.cnki.xsxb.2017.12.008](#).
- [21] FRANCE M M, TURNER J R. The mucosal barrier at a glance[J]. *Journal of Cell Science*, 2017, 130(2): 307. DOI: [10.1242/jcs.193482](#).
- [22] BUCKLEY A, TURNER J R. Cell biology of tight junction barrier regulation and mucosal disease[J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2018, 10(1): a029314. DOI: [10.1101/cshperspect.a029314](#).
- [23] UMEDA K, IKENOCHI J, KATAHIRATAYAMA S, et al. ZO-1 and ZO-2 independently determine where claudins are polymerized in tight-junction strand formation[J]. *Cell*, 2006, 126(4): 741. DOI: [10.1016/j.cell.2006.06.043](#).
- [24] CHEN W Y, WANG M, ZHANG J W, et al. Acrolein disrupts tight junction proteins and causes endoplasmic reticulum stress-mediated epithelial cell death leading to intestinal barrier dysfunction and permeability[J]. *The American Journal of Pathology*, 2017, 187(12): 2686. DOI: [10.1016/j.ajpath.2017.08.015](#).
- [25] YAN H, AJUWON K M. Butyrate modifies intestinal barrier function in IPEC-J2 cells through a selective up-regulation of tight junction proteins and activation of the Akt signaling pathway[J]. *PLoS One*, 2017, 12(6): e0179586. DOI: [10.1371/journal.pone.0179586](#).
- [26] TURNER J R. Intestinal mucosal barrier function in health and disease[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2009, 9(11): 799. DOI: [10.1038/nri2653](#).
- [27] XING S, ZHANG B L, LIN M, et al. Effects of alanyl-glutamine supplementation on the small intestinal mucosa barrier in weaned piglets[J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2017, 30(2): 236. DOI: [10.5713/ajas.16.0077](#).
- [28] CHAUDHRY K K, SHUKLA P K, MIR H, et al. Glutamine supplementation attenuates ethanol-induced disruption of apical junctional complexes in colonic epithelium and ameliorates gut barrier dysfunction and fatty liver in mice[J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2016, 27: 16. DOI: [10.1016/j.jnutbio.2015.08.012](#).
- [29] YANG P C, TU Y H, PERDUE M H, et al. Regulatory effect of heat shock protein 70 in stress-induced rat intestinal epithelial barrier dysfunction[J]. *North American Journal of Medical Sciences*, 2009, 1(1): 9.
- [30] LIU H Y, DICKSVED J, LUNDH T, et al. Heat shock proteins: intestinal gatekeepers that are influenced by dietary components and the gut microbiota[J]. *Pathogens*, 2014, 3(1): 187. DOI: [10.3390/pathogens3010187](#).

责任编辑: 何承刚